Ueber das

Vorkommen reduzirender Substanzen im Harn.

Inaugural-Dissertation

zur

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

vorgelegt der

hohen medizinischen Facultät in Erlangen

am 23. Mai 1887

von

Hermann Heckenhayn,

approbirtem Arzt aus Coburg.

COBURG.

Druck von A. Rossteutscher.

1887.

Ueber das

Vorkommen reduzirender Substanzen im Harn.

Inaugural-Dissertation

zur

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

vorgelegt der

hohen medizinischen Facultät in Erlangen

am 23. Mai 1887

von

Hermann Heckenhayn,

approbirtem Arzt aus Coburg.

COBURG.

Druck von A. Rossteutscher.

1887.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Fakultät.

Referent: Herr Prof. Dr. Penzoldt.

Seinen lieben Eltern in Dankbarkeit gewidmet

vom

Verfasser.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546422_0198

Die nachfolgenden Untersuchungen sind auf Anregung und mit freundlicher Unterstützung des Herrn Professor Dr. Fleischer im Laboratorium des physiologischen Instituts angestellt worden. Ich spreche Herrn Professor Dr. Rosenthal, dem Director des physiologischen Instituts, für Ueberlassung des Laboratoriums und für die Erlaubniss zur Benutzung der nöthigen Apparate und Reagentien meinen verbindlichsten Dank aus.

Die schon seit längerer Zeit bekannte Anwesenheit von reduzirenden Substanzen im menschlichen Harn ist sowohl von praktischem als theoretischem Gesichtspunkte aus von einem gewissen Interesse. Der vielbeschäftigte praktische Arzt benutzt zum Nachweis des Zuckers im Harn, um zur Diagnose des Diabetes mellitus zu gelangen, die am leichtesten auszuführenden Reductionsproben und unter diesen fast immer die Trommer'sche Probe, deren positives Resultat auf der Reduction des schwefelsauren Kupferoxyds zum Kupferoxydul beruht. Nur sehr selten wird er in der Lage sein, die viel sicherere und eindeutige Gährungsprobe anzustellen, und noch viel seltener wird er sich im Besitz eines Polaristrobometers befinden, um den Harn auf seine optischen Eigenschaften und auf die Anwesenheit rechtsdrehender Substanzen (Zucker)

zu untersuchen. Sind nun aber reduzirende Substanzen im Harn in mehr oder minder reichlicher Menge vorhanden, so wird leicht auf Grund positiv ausfallender Reductionsproben mit Unrecht die Diagnose Diabetes mellitus oder Melliturie gestellt und der Kranke event. einer ganz unnöthigen antidiabetischen Kur unterworfen. Auf der anderen Seite ist aber auch der Nachweis reduzirender Substanzen im Harn von Wichtigkeit, da eine Isolirung und Reindarstellung derselben möglicherweise Substanzen ergiebt, welche für die Synthese des Traubenzuckers und für eine Erklärung des Zustandekommens des Diabetes überhaupt einen gewissen Werth erhalten können. Es ist nicht so undenkbar, dass jene reduzirenden Substanzen entweder dem Zucker noch sehr nahestehende Zersetzungsproducte sind, welche sehr leicht wieder in Zucker übergeführt werden können, sodass dadurch auf die Stellung der einzelnen Moleküle im Zucker, welche noch nicht bekannt ist, ein neues Licht geworfen würde. Somit darf es uns nicht Wunder nehmen, dass schon in zahlreichen Arbeiten auf die Gegenwart jener reduzirenden Substanzen hingewiesen wurde und lebhaft bedauert worden ist, dass jene Substanzen noch niemals isolirt und bestimmt werden konnten.

Auf Grund seiner Beobachtungen hat Flückiger darauf hingewiesen, dass in nicht allzuconcentrirten Harnen soviel reduzirende Substanz gelöst sei, dass der Harn einer 0,25% igen Zuckerlösung gleichzusetzen sei. Wir würden demnach, wenn diese Berechnung richtig ist, in einer durchschnittlichen Harn-

menge von 1800—2000 g gegen 5 g jener Substanzen im Harn anzunehmen haben. Die Gegenwart jener Stoffe ist aber auch noch weiter wichtig für die vielfach discutirte Frage: kommt im normalen Urin Zukker vor? wie sie von Brücke und Anderen bejaht, von anderer Seite dagegen entschieden verneint worden ist. Ist die Brücke'sche Hypothese richtig, so wäre die reduzirende Eigenschaft des normalen Harns sehr leicht zu erklären, weil auf Zucker zu beziehen.

Durch die Beobachtungen von Penzoldt und Anderen ist festgestellt worden, dass die Trommer'sche Probe, wenn sie im Harn angestellt wird, nicht sehr scharf ist, sodass selbst wenn 0,3—0,4 Zucker auf 100 Harn vorhanden sind, die Reduction nur schwach, oder gar nicht mehr eintritt. Es entgeht somit eine grössere Menge reducirender Substanz, welche weniger als 0,3% beträgt, unserem Nachweise, und es war deshalb mit Freude eine neue Probe zu begrüssen, welche viel schärfer ist und viel geringere Mengen jener Substanz erkennen lässt.

Vor kurzer Zeit untersuchte ein bekannter Chemiker, welcher fürchtete, die Zeichen des Diabetes an sich zu bemerken, seinen Harn auf Zucker. Da zufällig keine Fehlingsche Lösung zur Hand war, so benutzte er eine andere Reaction, welche Adolf von Bayer zu der mit Recht so berühmt gewordenen Entdeckung der Synthese des Indigo geführt hatte. Der letztere hat vor einigen Jahren gefunden, dass Orthonitrophenylpropiolsäure mit Zucker in alkalischer Lösung beim Erwärmen Indigo ausfallen lasse. In der

gleichen Weise entsteht Indigo, wenn Orthonitrobenzaldehyd mit Aceton zusammengebracht wird. Es ist diese Probe seinerzeit von Penzoldt dazu verwendet worden, im Harn Aceton nachzuweisen.

Als der Harn zuerst mit Orthonitrophenylpropiolsäure (welche in kohlensaurem Natron gelöst ist) nach Zusatz einiger Tropfen Kalilauge erwärmt wurde, schied sich in demselben, zur grossen unangenehmen Ueberraschung des betreffenden Chemikers, eine grössere Menge Indigo aus. Als er aber den Harn sämmtlicher Praktikanten seines Laboratoriums untersuchte, zeigte es sich, dass die sämmtlichen, anscheinend vollständig normalen Urine die gleiche Reaction ergaben, während die Trommer'sche Probe negativ war. Wir besitzen somit jedenfalls in genannter Reaction mit Orthonitrophenylpropiolsäure ein viel schärferes Mittel zum Nachweis reduzirender Substanzen und Herr Professor Fleischer, welcher auf diese Reaction aufmerksam geworden war, veranlasste mich bei einer grösseren Reihe von Urinen jene Probe anzustellen und womöglich den Versuch zu machen, die betr. Substanz aus dem Harn rein darzustellen. Diese letzteren Versuche haben leider wegen der Eigenschaften jener Substanz ein befriedigendes Ergebniss noch nicht gehabt, da es auserordentlich schwer ist, aus einer so complexen Flüssigkeit, wie es der Harn ist, bestimmte Körper zu isoliren und so rein darzustellen, dass eine Elementaranalyse vorgenommen werden kann. Doch werden diese Versuche noch fortgesezt werden.

Vor Allem kam es uns darauf an, die Schärfe

jener Reaction auf Zucker mit Sicherheit nachzuweisen. Es zeigte sich, dass, wenn eine 1%ige Lösung reinsten Traubenzuckers (von Kahlbaum bezogen und auf seinen Aschengehalt geprüft) 15 mal verdünnt wurde, damit die Grenze der Reaction erreicht war. Wir haben demnach in einer 0,066%igen Traubenzuckerlösung noch gerade ein positives Resultat. In 1 ccm ist dabei nur 0,00066 g Traubenzucker enthalten. Zur Anstellung der Reaction wird reine Orthonitrophenylpropiolsäure, welche uns freundlichst aus dem Laboratorium des Herrn Professor O. Fischer überlassen wurde, in kohlensaurem Natron gelöst bis zur vollständigen Concentration. Versetzt man Traubenzuckerlösung ungefähr mit dem gleichen Volumen jener organischen Säure und fügt 1—2 Tropfen nicht zu concentrirte Kalilauge hinzu und erwärmt, so färbt sich die Flüssigkeit bei schwachem Erwärmen grün, bei stärkerem blau und blauroth, und es scheidet sich Indigo am Boden der Eprouvette aus. Schüttelt man die betreffende Flüssigkeit mit Chloroform aus, so färbt sich dieses, wenn es nicht allzu rein ist (reines Chloroform nimmt ausserordentlich wenig Indigo auf), besonders aber beim Erwärmen wunderschön blau. Giesst man nach Eintritt der Reaction die Flüssigkeit auf ein Porzellanschälchen oder dickes Filtrirpapier, so scheidet sich Indigo in Substanz ausserordentlich deutlich ab. Ist nur sehr wenig reduzirende Substanz vorhanden, so färbt sich die Flüssigkeit nur schwach grün, manchmal bei richtigem Zusatz von Orthonitrophenylpropiolsäure kirschroth, aber auch

in diesem Falle lässt sich durch Ausschütteln mit Chloroform immer noch Indigo nachweisen. Am besten thut man daran, die Flüssigkeit, welche kein allzudeutliches Resultat gegeben hat, in einem Porzellanschälchen stehen zu lassen, und man findet dann später meist am Boden eine Blaufärbung, welche von Indigo herrührt. Beim Erwärmen der Orthonitrophenylpropiolsäure mit Kali allein färbt sich die Flüssigkeit etwas dunkler, aber eine Bildung von Indigo findet nicht statt. Es wurde nun eine grössere Reihe von Körpern, welche zum Theil im Harn vorkommen können, auf jene Reaction geprüft. Die Untersuchung ergab folgendes:

Während Traubenzucker, wie schon angegeben, die Reaction sehr deutlich giebt, tritt dieselbe bei Milchzucker nur schwach, bei Rohrzucker gar nicht auf. Dextrin zeigt sie sehr stark, dagegen wird ein negatives Resultat constatirt bei Lösungen von Harnsäure, Ameisensäure, Milchsäure, Weinsäure, Bernsteinsäure, Allantoin, Aldehyd, Aceton, Brenzcatechin, Phloroglucin, Phloridzin, (welche drei letzten Körper Kupferoxyd in alkalischer Lösung sehr stark reduziren) Glycogen, Kreatin und Kreatinin. Da Kupferoxyd viel schwerer reduzirt wird als die Orthonitrophenylpropiolsäure, so ist es nicht recht zu verstehen, warum bei jenen drei Körpern das Resultat ein negatives war. Es wurde dann weiterhin eine grössere Anzahl von Urinen (200—300) aus den verschiedensten Zeiten, (Morgen-, Nacht-, Abendurine) und von den verschiedensten Kranken, (fieberhafte Krankheiten, Albumi-

nurie) auf jene Reaction geprüft und es zeigte sich jedesmal ein positives Resultat. In einzelnen Fällen war die Reaction eine sehr starke, doch schien das uns hauptsächlich von der mehr oder minder stärkeren Concentration des Harns abzuhängen.

Da es uns bei den nun folgenden Versuchen schien, dass ein Theil des Körpers bei stärkerem Erwärmen sich zersetze, so wurde zuerst in folgender Weise verfahren:

Grössere Mengen Urins (bis zu 10 und 15 Liter) wurden mit Bleiessig gefällt, (Bleiessig fällt bekanntlich Traubenzucker nicht). Der reichlich entstehende Niederschlag wurde abfiltrirt und häufig mit destillirtem Wasser ausgewaschen. Das Filtrat wurde mit Ammoniak, der entstehende Niederschlag in gleicher Weise wie der erste behandelt und das nun erhaltene Filtrat mit Bleizucker und Ammoniak gefällt. Die drei Niederschläge wurden in möglichst wenig Wasser vertheilt und dann mit Schwefelwasserstoff entbleit. Ebenso wurde in das letzte Filtrat H^2S eingeleitet. Nur der erste durch reinen Bleiessig gewonnene Niederschlag enthielt die indigobildende Substanz. Es schien daraus bereits hervorzugehen, dass die reduzirende Substanz des Harns kein Traubenzucker ist, welcher bekanntlich durch Bleizucker und Ammoniak gefällt wird. Denn als wir einen Theil der Flüssigkeit, welche reduzirend wirkte, direkt mit Bleizucker und Ammoniak behandelten, fand sich der betreffende Körper nicht im Niederschlag.

Das entbleite Filtrat (No. I), welches mit Orthonitrophenylpropiolsäure Indigo bildet, wurde abgedampft

und der Rückstand mit Alkohol ausgezogen. Der Körper ging nicht in den absoluten Alkohol über, was auch gegen die Identität mit Traubenzucker spricht, da dieser ziemlich leicht in Alkohol löslich ist. Nachdem wir uns nochmals überzeugt hatten, dass beim Erwärmen auf dem Wasserbade keine Zersetzung der Substanz zu befürchten sei, wurden auf grossen Wasserbädern 6 Ltr. Urin fast bis zur Trockne eingedampft. Der Rückstand ergab eine sehr prägnante Reaction. Die vereinigten Rückstände wurden mit gleichen Theilen Alkohol und Aether extrahirt. Es löste sich darin nur ein Theil mit rothbrauner Farbe. Der Alkohol und Aether wurden vorsichtig verdampft und es zeigte sich, dass nur Spuren der gesuchten Substanz in denselben übergegangen waren. Der restirende Rückstand wurde mit absolutem Alkohol ausgezogen, in welchen ebenfalls nur Spuren der reduzirenden Substanz übergingen. Der nach Extraction mit absolutem Alkohol bleibende sehr reichliche Rückstand, welcher neben anderen Körpern den grössten Theil der anorganischen Bestandtheile des Harns enthielt, wurde mit ungefähr 50—60%igem Alkohol ausgezogen und das Extract auf dem Wasserbade verdampft. Der Rückstand ergab in Wasser gelöst die Reaction auf Indigo sehr stark. Es schied sich direkt fast reiner Indigo aus, welcher auf einem kleinen Filter gesammelt und mit Wasser extrahirt die schöne charakteristische Indigofarbe zeigte. Ein Theil der wässerigen Lösung, welche sehr reich an reduzirender Substanz war, wurde mit Aether mehrfach ausgeschüttelt und der Aether ver-

dampft. In den Aether war nichts von der fraglichen Substanz übergegangen. Dasselbe Resultat wurde gefunden, nachdem die Flüssigkeit mit Schwefelsäure angesäuert war, und ebensowenig liess sich aus der stark alkalisch gemachten Flüssigkeit die uns interessirende Substanz gewinnen. Wird Harn, welcher die Reaction sehr deutlich giebt, auf freiem Feuer destillirt, bis ungefähr ein Drittel des Inhalts übergegangen ist, so giebt das Destillat keine Reaction. Der Körper ist also nicht flüchtig. Der Rückstand giebt die Reaction noch ausserordentlich deutlich. Der Körper wird also nicht, wie wir früher angenommen hatten, durch höhere Temperatur zersetzt. Säuert man den Harn stark mit Schwefelsäure an und destillirt, so ist das Resultat absolut das gleiche.

Wird der Harn nach Zusatz von Alkali destillirt, so findet sich im Destillat keine reduzirende Substanz, im Rückstande hat sich aber dieselbe zersetzt.

Wird Harn durch Kohle filtrirt, bis das Filtrat vollständig wasserhell und farblos geworden ist, so ist in demselben die Indigoreaction ausserordentlich deutlich, ja noch deutlicher als in dem stark gefärbten Harn. Die reduzirende Substanz wird also nicht von Kohle zurückgehalten, während dies bekanntlich für geringe Mengen von Traubenzucker gilt. Da die Substanz sehr leicht in Wasser löslich zu sein scheint und vielleicht deswegen eine Ausschüttelung mit Aether nicht zum Ziele führte, so wurde eine grössere Menge Urin abgedampft und der feste Rückstand für sich als auch nach Ansäuerung mit H^2SO^4 und in

einem späteren Falle nach Zusatz von Alkali ausgezogen. Das Resultat war das frühere negative. Da die betr. Substanz nach unsern mitgetheilten Beobachtungen kaum in absolutem Alkohol, in gleichen Theilen Alkohol und Aether und in reinem Aether löslich ist, sondern nur in 50—60%igem Spiritus, so wird es sehr schwer sein, dieselbe von andern Harnbestandtheilen zu trennen, da in dem Spiritus sehr viele Stoffe löslich sind.

Es wird später versucht werden durch Fällung mit allen möglichen Substanzen (Phosphorwolframsäure, Molybdänsäure, Goldchlorid, Quecksilberjodid Cadmiumjodid etc.), dieselbe von den andern in Spiritus löslichen Substanzen zu trennen. Ein Theil der anorganischen Substanzen lässt sich durch Behandlung mit Bariumsalzen und Argentum nitricum ausfällen, ohne dass dabei, wie dies schon beobachtet wurde, die Substanz mitgerissen wird.

Zum Schlusse wäre noch hinzuzufügen, dass diejenigen Flüssigkeiten, welche die Indigoreaction sehr stark gaben, Kupfer in alkalischer Lösung nicht reduzirten. Ebensowenig war bei Behandlung mit Phenylhydrazin und essigsaurem Natron eine Substanz abzuscheiden, während bekanntlich alle Zuckerarten auf Phenylhydrazin reagiren. Wurden die Flüssigkeiten, welche Orthonitrophenylpropiolsäure sehr reichlich zu Indigo reduzirten, mit Bleiessig und Ammoniak oder mit Bleizucker und Ammoniak erwärmt, so färbte sich der entstehende Niederschlag nicht roth, während dies bei zuckerhaltigen der Fall ist.

Fassen wir noch einmal unsere mitgetheilten Beobachtungen zusammen, so können wir bisher nur folgendes hervorheben:

Sämmtliche normale und pathologische Harne geben die Indigoreaktion. Der betreffende reduzirende Körper zersezt sich auch bei einer 100° übersteigenden Temperatur und bei Gegenwart verdünnter Schwefelsäure nicht, wohl aber in stark alkalischer Lösung. Derselbe wird durch Kohle nicht zurückgehalten. Durch Bleiessig wird derselbe gefällt, durch Bleizucker und Ammoniak nicht. Der Körper ist nicht flüchtig und geht auch nach Ansäuerung des Harns mit verdünnter Schwefelsäure mit den Wasserdämpfen nicht über. Er ist unlöslich in Aether, in gleichen Theilen von absolutem Alkohol und Aether und in absolutem Alkohol, leicht löslich dagegen in verdünntem Spiritus.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, meinem hochverehrten Lehrer Herrn Professor Dr. Fleischer, für die Anregung zu dieser Arbeit, sowie für die gütige Unterstützung bei Anfertigung derselben meinen herzlichsten Dank zu sagen.